

УДК 661.158:615.015

Кушнір І. М., канд.с.-г. наук, igor70@gmail.com ©

Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок, м. Львів

ВИЖИВАННЯ МІКРООРГАНІЗМІВ У МАЗЕВИХ ОСНОВАХ

У статті висвітлено питання виживання *E. coli*, *S. aureus*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa* та грибів *C. albicans*, *A. niger*, що були внесені у мазеві основи гліцерин та вазелін за температури їх зберігання 6 та 20 °С. Було встановлено, що мікроорганізми можуть тривалий час виживати у мазевих основах. Так, *E. coli*, *S. aureus*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa* висівали упродовж 60 діб, а гриби *C. albicans* та *A. niger* упродовж 90 діб після внесення культур. Температурні режими зберігання мазевих основ суттєво не впливали на виживання мікроорганізмів.

Ключові слова: мікробіологічна чистота, нестерильні лікарські засоби, мікроорганізми, гриби, тест-штами.

Вступ. Одним із показників якості нестерильних лікарських засобів (НЛЗ) є їх мікробіологічна чистота. Високий рівень мікробної контамінації істотно впливає на якість готових лікарських засобів і становить небезпеку для макроорганізму [1, 2].

Визначення мікробної забрудненості нестерильних лікарських засобів є більш складним завданням, ніж дослідження на стерильність, так як потребує кількісного обліку мікроорганізмів, що наявні у препараті, а також їх ідентифікацію з метою встановлення належності до патогенних видів [3].

У проблемі забруднення НЛЗ питання мікробіологічної чистоти займає значне місце у зв'язку з здатністю мікроорганізмів виживати в препаратах. Майже всі НЛЗ, що в процесі виробництва не підлягали стерилізації, можуть містити різноманітні мікроорганізми, які не тільки здатні тривалий час виживати, але й розмножуватися [4].

Аналіз даних літератури свідчить про різні терміни виживання мікроорганізмів у НЛЗ, але ці дані досить суперечливі. Поряд з тим мікроорганізми та гриби можуть тривалий час зберігати свою життєздатність у різних мазевих основах, причому один і той самий мікроорганізм у різних основах перебуває різний час [5]. Тому метою нашої роботи було встановити терміни виживання мікроорганізмів у мазевих основах, що використовуються для виготовлення нестерильних ветеринарних лікарських засобів.

Матеріали і методи. Для встановлення терміну виживання мікроорганізмів, в якості мазевих основ використали гліцерин та вазелін, у які вносили наступні тест-штами: *E. coli* ATCC 8739, *S. aureus* ATCC 6538, *B. subtilis* ATCC 6633, *P. aeruginosa* ATCC 9027, *C. albicans* ATCC 10231, *A. niger* ATCC 16404 із розрахунку 10^3 КУО/см³ (колонієутворюючих одиниць), що були

приготовані за оптичним стандартом мутності. Інокульовані зразки розділили на дві частини, одну зберігали за температури 6, а другу — 20 °С. Визначення кількості КУО в досліджуваних зразках проводили у динаміці через 3, 7, 14, 21, 30, 60 діб при дослідженні бактерій та 30, 60, 90 діб при дослідженні грибів після їх внесення у гліцерин і вазелін.

Результати дослідження. Виявлення тривалості перебування *E. coli* у гліцерині та вазеліні при зберіганні за температури 6 та 20 °С на 3, 14 21, 30 та 60 добу після внесення тест-штаму подано у таблиці 1.

Таблиця 1

Зміни кількості КУО/см³ *E. coli* при різних температурних режимах

Внесено КУО/см ³	Доби	Вазелін		Гліцерин	
		6 °С	20 °С	6 °С	20 °С
7,6±0,1·10 ²	3	7,2±0,1·10 ² **	6,6±0,2·10 ² **	6,5±0,1·10 ² ***	5,9±0,1·10 ² ***
	14	6,7±0,1·10 ² ***	6,3±0,1·10 ² ***	6,3±0,1·10 ² ***	6,0±0,1·10 ² ***
	21	3,5±0,1·10 ² ***	3,2±0,1·10 ² ***	3,4±0,1·10 ² ***	2,9±0,1·10 ² ***
	30	113±1,9***	111,2 ± 1,7***	95,4±1,5***	92,2±1,8***
	60	-	-	-	-

Примітка: у цій та таблиці 2 * - $p < 0,001$ порівняно з внесенням

Як видно з даних, наведених у таблиці 1, упродовж 14 діб кількість *E. coli* після внесення її у досліджувані проби була на високому рівні і зменшувалась незначно. Вірогідне зменшення кількості *E. coli* встановили на 21 та 30 добу перебування у вазеліні. Так за температури зберігання 6 °С, кількість мікроорганізмів зменшувалась, відповідно, у 2,1 та 6,7 раза, а у гліцерині — 2,2 та 7,9 раза ($p < 0,001$). На 60 добу *E. coli* як у вазеліні, так і гліцерині не висівали. Різні температурні режими зберігання вазеліну та гліцерину не значно впливали на кількість *E. coli*.

Вживання *S. aureus* при внесенні у вазелін та гліцерин і зберіганні їх за різних температурних режимів подано у таблиці 2.

Таблиця 2

Зміни кількості КУО/см³ *S. aureus* при різних температурних режимах

Внесено КУО/см ³	Доби	Вазелін		Гліцерин	
		6 °С	20 °С	6 °С	20 °С
8,4±0,1·10 ²	3	7,7±0,1·10 ² **	7,5±0,1·10 ² ***	7,3±0,1·10 ² ***	7,1±0,1·10 ² ***
	14	198,6±3,3***	184,4±2,1***	183,4±2,1***	177±2,3***
	21	101,6±1,0***	98,2±1,1***	100,6±1,5***	94±1,2***
	30	21,8±1,1***	18,8±0,5***	17,6±0,7***	15,8±0,6***
	60	9,8±1,3***	8,06±0,8***	6,8±0,6***	6,0±0,5***

Як видно з даних, наведених у таблиці 2, кількість *S. aureus* на 3 добу після внесення у вазелін за температури зберігання 6 та 20 °С зменшувалась, відповідно, на 8,3 та 10,7 %, а вже на 14 добу — у 4,2 та 4,5 раза, на 21 добу — у 8,2 та 8,5 раза, на 30 добу — у 38,5 та 44,6 раза ($P < 0,001$). На 60 добу кількість *S. aureus* була незначною, аналогічну картину відмічали і при внесення даного тест-штаму і в гліцерин.

Вживання *P. aeruginosa* при зберіганні вазеліну та гліцерину за різних температурних режимів подано у таблиці 3

Таблиця 3

Зміни кількості КУО/см³ *P. aeruginosa* при різних температурних режимах

Внесено КУО/см ³	Доби	Вазелін		Гліцерин	
		6 °С	20 °С	6 °С	20 °С
9,2±0,3·10 ²	3	8,5±0,1·10 ² *	8,4±0,2·10 ² *	8,6±0,1·10 ²	8,4±0,1·10 ² *
	14	7,0±0,1·10 ²	6,5±0,1·10 ² ***	6,5±0,1·10 ² ***	5,5±0,1·10 ² ***
	21	5,5±0,2·10 ²	4,7±0,1·10 ² ***	4,3±0,1·10 ² ***	3,5±0,1·10 ² ***
	30	204±2,02***	193,6±2,0***	175±1,45***	157,2±2,24***
	60	42±1,5***	34,2±1,6***	35,4±2,0***	29±2,6***

Примітка: * - $p < 0,05$; *** - $p < 0,001$, порівняно з внесенням

Як видно з даних, наведених у таблиці 3, кількість *P. aeruginosa* на 3 добу після внесення у вазелін за температури зберігання 6 та 20 °С зменшувалась, відповідно, на 7,6 та 8,6 %, а на 14 добу — на 23,9 і 29,3 %. Значне зменшення кількості *P. aeruginosa* встановили на 21 добу — у 1,6 та 1,9 раза, на 30 добу — у 4,5 та 4,7 раза ($p < 0,001$). На 60 добу кількість *P. aeruginosa* була незначною. Аналогічна картина була і при внесенні даного тест-штаму у гліцерин, проте, як у попередніх випадках у гліцерині кількість мікроорганізмів була дещо нижчою, ніж у вазеліні.

Вживання *B. subtilis* при зберіганні вазеліну та гліцерину за різних температурних режимів подано у таблиці 4.

Таблиця 4

Зміни кількості КУО/см³ *B. subtilis* при різних температурних режимах

Внесено КУО/см ³	Доби	Вазелін		Гліцерин	
		6 °С	20 °С	6 °С	20 °С
8,3±0,1·10 ²	3	7,7±0,1·10 ² **	6,8±0,1·10 ² ***	7,0±0,2·10 ² ***	6,6±0,1·10 ² ***
	14	7,2±0,1·10 ² ***	6,6±0,1·10 ² ***	6,8±0,1·10 ² ***	6,3±0,1·10 ² ***
	21	5,4±0,1·10 ² ***	4,9±0,2·10 ² ***	4,3±0,1·10 ² ***	4,0±0,1·10 ² ***
	30	278,4±2,4***	264,4±1,9***	193±1,7***	181,2±1,8***
	60	116±3,3***	100,2±1,3***	94,8±2,1***	88,8±1,7***

Примітка: у цій та таблицях 5, 6 ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$, порівняно з внесенням

Як видно з даних, наведених у таблиці 4, кількість *B. subtilis* на 3 добу після внесення у вазелін за температури зберігання 6 та 20 °С зменшувалась, відповідно, на 7,2 та 18 %, на 14 добу — 13,2 та 20,4 %, на 21 добу — 34,9 та 40,6 %. Значне зменшення кількості мікроорганізмів у 2,9 та 3,1 раза відмічали на 30 добу, а на 60 добу — у 7,1 та 8,3 раза ($p < 0,001$). Дану тенденцію встановили і при внесенні *B. subtilis* у гліцерин. Вживання *A. niger* при зберіганні вазеліну та гліцерину за різних температурних режимів подано у таблиці 5.

Таблиця 5

Зміни кількості КУО/см³ *A. niger* при різних температурних режимах

Внесено КУО/см ³	Доби	Вазелін		Гліцерин	
		6 °С	20 °С	6 °С	20 °С
1,1±0,8·10 ³	30	7,6±0,5·10 ² **	7,2±0,3·10 ² **	7,2±0,3·10 ² **	6,8±0,4·10 ² **
	60	5,8±0,3·10 ² ***	5,4±0,7·10 ² ***	6,4±0,5·10 ² **	6,0±0,4·10 ² ***
	90	5,6±0,4·10 ² ***	5,0±0,3·10 ² ***	4,2±0,3·10 ² ***	3,8±0,4·10 ² ***

Як видно з даних, наведених у таблиці 5, кількість *A. niger* на 30 добу після внесення у вазелін за температури зберігання 6 та 20 °С зменшувалась, відповідно, на 35,6 та 39 %. Значне зменшення кількості *A. niger* у 2 та 2,1 раза відбувалося на 60 добу, а на 90 добу — у 2,1 та 2,3 раза ($p < 0,001$). Дану тенденцію відмічали і при внесенні *A. niger* у гліцерин. Вживання *C. albicans* при внесенні у вазелін та гліцерин і зберіганні їх за різних температурних режимів подано у таблиці 6.

Таблиця 6

Зміни кількості КУО/см³ *C. albicans* при різних температурних режимах

Внесено КУО/см ³	Доба	Вазелін		Гліцерин	
		6 °С	20 °С	6 °С	20 °С
6,5±0,1·10 ²	30	6,0±0,1·10 ² **	5,7±0,1·10 ² ***	5,9±0,1·10 ² **	5,7±0,1·10 ² ***
	60	5,1±0,1·10 ² ***	4,7±0,1·10 ² ***	4,6±0,1·10 ² ***	4,3±0,1·10 ² ***
	90	2,4±0,1·10 ² ***	2,3±0,1·10 ²	2,6±0,1·10 ² ***	2,2±0,1·10 ² ***

Як видно з даних, наведених у таблиці 5, кількість *C. albicans* на 30 добу після внесення у вазелін за температури зберігання 6 та 20 °С зменшувалась, відповідно на 7,6 та 12,3 %, на 60 добу — на 21,5 та 27,6 %, а на 90 добу — у 2,7 та 2,8 раза ($p < 0,001$).

Таким чином, при проведенні досліджень було встановлено, що мікроорганізми здатні тривалий час зберігати свою життєздатність у вазеліні та гліцерині, проте є певні незручності та складність готування проб для визначенні мікробного забруднення НЛЗ.

Висновки. 1. У мазевих основах гліцерині та вазеліні, внесені культури *E. coli*, *S. aureus*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, тривалий час зберігають свою життєздатність і висіваються впродовж 60 діб, а гриби *C. albicans* та *A. niger* — 90 діб

2. Температура зберігання (6, 20 °C) вазеліну та гліцерину суттєво не впливає на виживання мікроорганізмів.

Перспективи подальших досліджень. Розроблення методів контролю щодо вивільнення мікроорганізмів із мазевих форм НЛЗ з метою визначення фактичного мікробного забруднення.

Література

1. Каграмова Л. А. Контроль микробиологической чистоты нестерильных лекарственных средств и сырья // Система контроля качества лекарственных препаратов в стратегии GMP (материалы научно-практического семинара) Москва. — 2000. — С.17.

2. Мешковский А. П. К истории концепции GMP//Система контроля качества лекарственных препаратов в стратегии GMP (материалы научно-практического семинара) Москва. — 2000. — С.2–4.

3. Брагинская П. С., Шилова С. В., Чайковская С. М. Некоторые особенности определения микробной обсемененности порошков и таблеток антибиотиков пенициллинового ряда // Антибиотики. — 1977. — № 3. — С.208–211.

4. Егоров Н. С., Пименова М. Н., Пискунова Н. Ф. Биологические повреждения. — М. — 1979. — С. 115.

5. Иванов Л. А. Выживаемость микроорганизмов в мазевых основах // Фармация. — 1971. — № 2. — С.57–59.

Summary

I. M. Kushnir

SURVIVAL OF MICROORGANISMS IN OINTMENT BASES

In the article question of survival E. coli, S. aureus, B. subtilis, P. aeruginosa and mushrooms C. albicans, A. niger, that had been brought in at ointment bases — glycerin and Vaseline at temperature of storage 6 that 20 °C is shown. It had been established, that microorganisms can survive for a long time in ointment bases. So, E. coli, S. aureus, B. subtilis, P. aeruginosa have been sowed during 60 days, and mushrooms C. albicans and A. niger during 90 days after entering cultures. The temperature conditions of storage of ointment bases substantially did not influence on the survival of microorganisms.

Стаття надійшла до редакції 29.03.2010